



A New Predictor AMH (anti-müllerian hormone) to Determining Ovarian Reserve and Menopausal Aging in the Women

Kadınlarda Over Rezervini ve Menopoz Yaşını Belirlemede Yeni Prediktör AMH (Anti-Müllerian Hormon)

Kadınlarda AMH / AMH in the Women

Levent Sarıyıldız¹, Turan Akdağ²

¹Dr. Faruk Sukan Doğum ve Çocuk Hastanesi,

²Biyokimya Ana Bilim Dalı, Meram Tıp Fakültesi, Konya Üniversitesi, Konya, Türkiye

Özet

Müllerian inhibe edici madde (MIS) olarak da adlandırılan anti-müllerian hormon (AMH), yumurtalıkta granuloza hücreleri tarafından üretilir ve Transforming growth β ailesi (TGF- β) ailesinin bir üyesi olarak bilinmektedir. Araştırmalar AMH'nin over folikül gelişimi ve büyümesinde etkili olduğunu ve TGF- β ailesinin diğer üyeleri ile aynı özellikleri sergilediğini göstermektedir. AMH, kadınların üreme çağında kritik bir öneme sahiptir. Henüz over rezervi saptanmalarıyla ilgili belli bir standardizasyon geliştirilmemiştir. Son bulgular over fonksiyonun belirlenmesinde, AMH ölçülmesini Folikül stimüle edici hormon (FSH)'dan daha öne çıkarmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Anti-Müllerian Hormon; Over Rezervi; Menopozal Yaşlanma; İnfertilite

Abstract

Anti-mullerian hormone (AMH), also termed Mullerian inhibiting substance (MIS), is produced in ovary by granulose cells and known as a member of the TGF- β superfamily. The researchers imply that AMH is associated with the various growth factors in development and growth of ovarian follicles, furthermore is exhibited the features of other TGF- β family members. AMH has a critical importance in reproductive age of women. Certain standardization has not yet been developed in determining the ovarian reserve. Recent findings reveal the importance of AMH in determining ovary function and, highlight the importance of AMH than FSH.

Keywords

Anti-Mullerian Hormone; Ovarian Reserve; Menopausal Aging; Infertility

DOI: 10.4328/JCAM.918

Received: 10.02.2012 Accepted: 25.02.2012 Printed: 01.05.2013

J Clin Anal Med 2013;4(3): 241-4

Corresponding Author: Levent Sarıyıldız, Dr. Faruk Sukan Doğum ve Çocuk Hastanesi, 42000 Konya, Türkiye.

GSM: +905052176973 E-Mail: leventsariyildiz@hotmail.com

Giriş

AMH'nin yapısı, genetiği ve etki mekanizması

MIS (Mullerian Inhibiting Substance) diye de adlandırılan anti-müllerian hormon (AMH) kadın overlerinde granuloza hücrelerince [1] sentezlenir ve TGF- β ailesinin bir üyesi olarak kabul edilir. AMH homodimerik disülfid bağlı bir glikoprotein ve molekül ağırlığının 140 kDa olduğu tespit edilmiştir [2,3]. İnsanlarda AMH geni tarafından kodlanır ve AMH'nin gen kromozomu 19 p 13.3 ' te yer almaktadır [4].

İnsan AMH prekürsör proteini 560 amino asit olarak sentezlenir. C terminalinde 109 amino asitlik proteolitik kopma noktası ile aktif hale gelir. AMH beş ekzona bölünmüş 2.75'lik nisbi kısa gen ile kodludur. Gen haritasında 19. kromozom 13.2-13.3'te lokalizedir. AMH reseptör tip 2, 12. kromozom üzerinde uzun kolda lokalize olup 11 ekzondan oluşur [5]. TGF- β ailesinin diğer üyeleri gibi AMH sinyalleri tip 2 trans-membran serin/threonin kinaz (S/T) reseptörüne bağlanır. Bu reseptör kompleks şeklindedir ve tip 1 serin/threonin kinaz reseptörünün fosforilasyonu vasıtasıyla sonradan aktive olmaktadır. AMH'nin spesifik tip 2 reseptörü (AMH-R2) ve bu reseptörün mRNA'sı granuloza hücrelerinde AMH ile birlikte co-lokalize haldedir [6].

AMH sinyalizasyonu reseptörler tarafından regüle edilen SMAD'ların fosforilasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Fosforillenmiş R-SMAD'lar SMAD-4 ile kompleks oluştururlar ve nükleus içinde transloke olurlar. Bu düzenleme ile spesifik hedef genler uyarılmış olur [7].

AMH ovaryum folliküllerinin büyüme ve gelişiminde çeşitli büyüme faktörleri ile bağlantılı olduğu, diğer TGF- β aile üyelerinin sahip oldukları özellikleri sergilediği belirtilmektedir [8,9]. Özellikle granuloza hücreleri tarafından lokal olarak üretilen AMH ve İnhibin-B gibi büyüme faktörleri folliküler büyüme ile yakından ilişkili oldukları görülmektedir [10].

İlk çalışmalar AMH'nin foliküler hormon yapımında etkili olduğunu göstermiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucu AMH'nin aromataz aktivitesini granuloza hücrelerinde göstererek FSH'yı stimüle ettiği, LH reseptör sayısını ise azalttığı görülmüştür. Kadın folliküllerinin büyüme ve gelişiminde çeşitli büyüme faktörlerinin bağlantılı olduğu TGF- β ailesinin onların sahip oldukları fonksiyonları kullandığı ve gonadotropine neden olan sinyallerle birbirlerini etkiledikleri belirtilmektedir. Özellikle granuloza hücreleri tarafından lokal olarak üretilen AMH ve İnhibin-B gibi büyüme faktörleri folliküler büyüme ile yakından ilişkili oldukları belirtilmektedir [11].

Antral fazın ilerleyen döneminde AMH'nin görülmesi kaybolur, pre-ovülatuar folliküllerde ve korpus luteumda da AMH tespit edilemez. Bunlara ilaveten folliküller atreziye uğradıkları zaman da AMH'nin varlığı ortadan kalkar [12].

Dişi bireyde embriyogenezde AMH'nin yokluğu ovidukt, serviks, uterus ve vajinanın üst kısımlarının gelişimine izin vermektedir [13]. AMH teka hücrelerinde testosteron yapımını azaltırken, overyan aktivitesi üzerine de düzenleyici etkisi vardır [14]. AMH'nin müllerian kanaldan elde edilen dokunun büyümesini inhibe etme yeteneğinin olmasından dolayı endometriozis adenomyozis, uterus kanseri dâhil çeşitli hastalıklarda hormonun tedavisel yaklaşımında faydalı olabileceği ifade edilmektedir. AMH erkek çocuklarında testislerin sertoli hücreleri tarafından salgılanır ve çocukluk dönemi boyunca yüksek kalır. Fakat puberta ve yetişkinlik döneminde ise düşük seviyelere geriler. Erkeklerde yetersiz AMH aktivitesi PMDS (Persistent Müllerian Kanal Sendromu)' na neden olur ve bu kişilerde basit bir uterus ve inmemiş testis mevcuttur. Bu kişilerde AMH geni ya da reseptör geni (AMH-R2) genellikle anormaldir [15].

Folikülogenezde AMH'nin rolü

Primordial folliküllerin sınırlı popülasyon miktarı fetal yaşam boyunca oluşturulur. Germ hücreleri oositlerin maksimum sayısına kadar 10-15 kez bölünmektedir. Gebeliğin 20. haftasına kadar yedi milyona kadar çıkabilir. Oositlerin sayısı logaritmik biçimde düşmekte ve doğumda yaklaşık bir milyon oosit kalmaktadır. Bir sonraki oosit sayısındaki azalma ise çocukluk döneminde meydana gelir. Son olarak menarş dönemine 300.000-500.000 kadar oositle girilir [16].

Primordial folliküllerin kaybindan sonra sınırlı kalan follikül stoğu, primordial folliküllerin büyüme fazına girmesi ya da atreziye uğramasıyla da ayda yaklaşık 1000 follikül kaybı sürmektedir. Bu aylık kayıp oranı 35 yaşından sonra daha da artabilir [17]. Menopoz döneminde follikül havuzunun büyüklüğü yaklaşık olarak 100-1000'dir. Menstrual siklustaki kalıcı durum follikül havuzunun bitmesi nedeniyle meydana gelir. Bu follikül sayısı normal menstrual siklus için gerekli hormon konsantrasyonlarının meydana gelmesini sağlayamaz [18]. Postmenapozal dönemde overlerden kadın steroid hormonlarının sekresyonunun tamamen bitmiş olmasından dolayı over fonksiyonları durmaktadır. Sonuç olarak menopoza geçişin öncesinde ve sonrasında çok farklı hormon rejimlerinin etkin olması, kadının yaşam kalitesinde ve sağlıklı yaşlanmasında majör bir etkiye sahiptir. Menopozdan sonra koruyucu kadın seks steroid hormonlarının salgılanmasının durmasından dolayı farklı sağlık problemleri riskleri meydana gelir (osteoporoz, bilişsel fonksiyon değişiklikleri gibi) [19,20].

Son bulgular AMH'nin üreme çağındaki kadında hayati önemi olduğunu göstermektedir. AMH primordial follikül havuzunun azalmasında ve folliküllerin primordial safhadan büyüme safhasına geçiş hızının düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu görülmektedir. AMH, primordial follikül havuzunun tüketilme hızını yavaşlatarak koruyucu bir rol oynamaktadır. Erken antral dönemde de FSH'a bağlı follikül büyümesini inhibe ederek, folliküllerin büyüme hızını düzenlemektedir [21,22].

AMH eksikliğinin sonucu olarak daha fazla primordial follikül FSH tarafından stimüle edilir. Böylece daha fazla follikül gelişme evresine girmektedir. Overlerinde AMH bulunmayan kız çocuklarının (genelde 13-14 yaşında) primordial folliküllerinin tümü kaybedilir. Sonuç olarak overlerde büyüyecek hemen hemen hiç follikül kalmaz [23].

Fareler üzerine yapılan bir deneyde AMH'nin olmadığı farelerde daha fazla primordial follikülün büyüme fazına geçtiği tespit edilmiştir [24].

Overyal kistlerin oluşumunda AMH'nin rolü

Polikistik overlerde bilinmeyen nedenlerle aktive olan granuloza hücrelerinde meydana gelen düzensiz kronik AMH sekresyonu veya diğer bazı etkenler PKOS (polikistik over sendromu) gelişimine neden olmaktadır. Oligoovülatuar veya anovülatuar kadınların serum AMH düzeylerinin ölçümü PKOS'lu hastaların saptanmasında yardımcı olacağı ifade edilmektedir [25]. PKOS'lu kadınlarda yükselmiş olan androjen seviyeleri bu kadınlarda görülen yüksek AMH düzeyiyle bağlantılı olduğu öne sürülmektedir [26].

PKOS'lu kadınlarda AMH seviyesi ile androstenodion, testosteron düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun olduğunun tespit edilmesi bu hipotezi desteklemektedir [27,28].

Normal doğum yapan PKOS'lu anne, sağlık problemi olmayan kontrol grubundaki annelerin 2 - 3 aylık bebekleri ve prepubertal (4 - 7 yaş) dönemde olan kız çocukları üzerinde AMH, FSH, E2, testosteron, SHBG ve İnhibin B düzeylerini ölçmek için yapılan bir araştırmada; PKOS'lu kadınların bebek ve prepubertal dönemde

olan kız çocuklarında AMH düzeyinin kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek, gonadotropin ve seks steroidleri konsantrasyonunun her iki grupta benzer düzeyde, FSH düzeyinin ise PKOS'lu kadınların çocuklarında düşük olduğu belirlenmiştir [29]. Prepubertal dönemde PKOS' lu annelerin kız çocuklarında AMH düzeyinin yüksek olması ileride bu çocuklarda da PKOS olma riskinin yüksek olabileceği öne sürülmektedir [30]. Over kistleri üzerine yapılan çalışmalar, AMH düzeyinin ölçülmesiyle PKOS ve prematüre over yetmezliği gibi over fonksiyonlarının değerlendirilmesi açısından faydalı olabileceği belirtilmektedir [31].

Hamilelerde AMH' nın rolü

La Marca ve ark. [32] tarafından yapılan çalışmaya kadar hamilelik esnasındaki AMH düzeyleri ile ilgili herhangi bir literatür bilgi mevcut değildi. Yapılan bu çalışma ile hamilelik boyunca ve doğumdan hemen sonraki dönemlerde AMH düzeylerinin değerlendirilmesi fırsatı doğmuştur. Bu çalışmada hamilelik esnasında AMH düzeyleri arasında önemli farklılıkların olmadığı görülmüştür. İstatistiksel anlamda önemli olmayan AMH düzeyindeki azalma 3. trimesterde görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar 3. trimesterdeki AMH düzeyinin bebeklerdeki cinsiyet farklılığına işaret etmediğini göstermektedir.

Plasental AMH üretiminin olup olmadığı tartışmalı olmasına rağmen doğumdan sonra AMH seviye eksikliği azalır. Bununla birlikte yüksek östrojen düzeylerinin AMH geni üzerindeki etkisi doğumla birlikte azalır. Hamilelik esnasında progesteronun dolaşımında uzun süre yüksek olması folliküler üyelerin azalmasına neden olabilir [32]. Diğer çalışmalarda da AMH ile Estradiol arasında yakın bir ilişkinin olduğuna işaret edilmektedir. AMH ile AMH tip 2 reseptör polimorfizmini inceleyen yeni bir araştırma, folliküler faz estradiol seviyeleri ile AMH konsantrasyonu arasında bir korrelasyonun olduğunu belirtmektedir. İnsan overlerinde AMH, FSH duyarlılığını modüle ederek estradiol seviyelerini regüle etmektedir [33].

Hamile farelerle yapılan klinik çalışmalarda follikül rezervinin kesin korunmasıyla beraber, birim zamanda daha az follikülün büyümeye başladığına işaret edilmektedir [34].

AMH' nın klinikte önemi

Freeman ve ark [35] obez ve obez olmayan kadınlar üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda, obez olanlar da AMH seviyesini 0,016 ng/ml obez olmayanlarda ise 0,046 ng/ml olarak bulmuşlardır. Obez olan bayanlarda AMH seviyesi diğer gruba göre % 65 oranından daha düşüktür ki bu da infertilite sebebi olabilmektedir.

AMH' nin düzeyi menstrual siklus esnasında çok az değişir [36,37]. Bu özelliği kliniksel değerlendirmelerde avantaj sağlayabilir. AMH overyal rezervi değerlendirmenin yanı sıra granuloza hücreli tümörlerin saptanmasında ve takibinde, gecikmiş pubertanın tanınmasında ve dişi gonad fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. AMH' nin over rezervinin tespit edilmesinde kullanılması, infertilite tedavisi ve yardımcı üreme tekniklerinin başarısını önceden tahmin etme açısından avantaj sağlamaktadır [38].

IVF (in vitro fertilizasyon) tedavisinden önce over rezervini ölçmek için AMH' nın antral follikül sayımı ile birlikte değerlendirilmesi, tedavinin başarı oranını tahmin etmede kolaylık sağlamaktadır. Serum AMH düzeyi düşük olan infertil kadınlarda IVF tedavisinin başarı oranı, AMH düzeyi yüksek olan kadınlardan daha düşük olduğunu belirlenmiştir [39]. Bayramoğlu [40]' nun yaptığı çalışmada AMH düzeyi >0,25 pg/

ml olan infertil kadınlarda IVF tedavisinin başarı oranı % 96 iken; AMH düzeyi < 0,25 pg /ml'den düşük infertil kadınlarda ise başarı oranı % 23'lerde kalmıştır.

Kadınlarda serum AMH ölçümünün infertilite değerlendirme açısından önem taşıdığı görülmektedir. Yine AMH ile over rezervinin değerlendirilmesi, kadınlara aile-çocuk planlaması konusunda rehber olabilir. IVF tedavi siklusu sırasında over cevabını belirlemede serum AMH düzeyleri yol gösterici olabilir.

Kaynaklar

- Picon P. Action of the fetal testis on the development in vitro at müllerian duct in the rat. *Arch Anat Microscop Morphol Exp* 1983; 58 (1): 19.
- Pricad JY, Josso N. Purification of testicular Anti-Müllerian hormone, allowing direct visualization of pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Mol Cell Endocrinol* 1984;34(1) : 23-29.
- di Clemente N, Ghaffari S, Pepinsky RB, Pieau C, Joss N, Cate RL et al. Quantitative and interspecific test for biological activity of anti-müllerian hormone: the fetal ovary aromatase assay. *Dev* 1992; 114: 721 – 727.
- Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986; 45: 685-698.
- Behringer RR. The in vivo roles of müllerian inhibiting substance. *Curr Top Dev Biol* 1999; 29: 171- 187.
- di Clemente N, Wilson C, Foure E, Boussin L, Carmillo P, Tizard R, et al. Cloning expression and alternative splicing of the receptor for Anti-müllerian hormone. *Mol endocrinol* 1994; 8: 1006- 20.
- Massague J. TGF- beta, signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 753-791.
- Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL. Müllerian inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell* 1994; 79: 415 – 425.
- Teixeria J, Maheswaran S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance, an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endoc Rev* 2001; 22(5): 657-74.
- Matzuk MM, Burns KH, Viverios MM, Eppig JJ. Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 2002; 296(5576): 2178-80.
- Knight PG, Glister C. TGF-B super family members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006; 132: 191-206.
- Hirobe S, He WW, Lee MMi, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in granulosa and sertoli cells coincides with their mitotic activity. *Endocrinology* 1992; 131: 854 – 862.
- Weenen C, Laveb J, Von Bergh A, Cranfield M, Grome NP, Witsers JA et al. Anti-müllerian Hormone expression pattern in the human ovary, potential implications for initial and acyclic follicle recruitment. *Mol human Reprod* 2004; 10(2) :77-83.
- Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BCJM, Banasi LF, de Jong FH et al. Serum Anti-müllerian Hormone levels. a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002; 17: 3065 – 3071.
- Cupisti S, Dittrich R, Mueller A, Strick R, Stiegler E, Binder H et al. Correlation between anti-müllerian hormone inhibin B and activin A in follicular fluid in VF/CS patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes. *E J Med Res* 2007; 12(12) 604-608.
- Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7(10): 1342-6.
- Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development primates: fact and hypotheses. *Endoc Rev* 1996; 17: 121 – 55.
- te Velde ER, Van Leusden HA. Hormonal treatment for the climacteric: alleviation of symptoms and prevention of past menopausal disease. *Lancet* 1994; 343:654-58.
- Gibaldi M. Prevention and treatment of osteoporosis; does the future belong to hormone replacement therapy? *J Clin Pharmacol* 1997; 37: 1087 – 99.
- Kesslak JP. Can estrogen play a significant role in the prevention of Alzheimer's disease? *Neural Transm* 2002; Suppl 227 – 239.
- Baarends WM, Van helmond MJ, Post M. A novel member of the transmembrane serine/ threonine kinase receptor family is specifically expressed in the gonads and in mesenchymal cells adjacent to müllerian duct. *Development* 1994; 120: 189-197.
- Durlinger ALL, Grijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM et al. Anti-müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142 (11): 4891-99.
- Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN. Regulation of ovarian function; The role of Anti-Müllerian Hormone. *Reproduction* 2002; 124: 601 – 609.
- Durlinger ALL, Kramer P, Karels B, de jong FH, Uilenbreek JT, Themmen AP. Control of primordial follicle recruitment by anti-müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999; 140: 5789-96.
- Christine LC, Yong S, Amy GB. Relationship between serum müllerian inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with PCOS and normal women. *Fertility and Sterility* 2002; 77(1): 141 – 146.
- Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S et al. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin*

Endocrinol Metab 2007; 92: 240–245.

27. Cook CL, Siow Y, Taulor S, Fallat ME. Serum müllerian inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil and Steril* 2000; 73: 859 – 861.

28. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum Anti-Müllerian Hormone as surrogate for antral follicle count for definition of Pcos. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 941-45.

29. Petermann TS, Codner E, Maliqueo M, Echiburu B, Hitschfeld C, Crisosto N et al. Increased Anti-mullerian Hormone Serum Concentrations in prepubertal daughters of women with pCOS. *Clin E and Metab* 2006; 91(8): 3105 – 3109.

30. Crisosto N, Codner E, Maliquen M, Echiburu B, Sanchez F, Petermann T. Anti-mullerian Hormone levels in prepubertal daughters of women with polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Metab* 2007; 92(7): 2739 – 2743.

31. Visser J, de Jong F, Laven J, Themmen A. Anti-müllerian hormone: a new marker ovarian function. *Reproduction* 2006; 131(1): 1-9.

32. la Marca A, Giulini R, Orvieto R, Volpe A. Anti Müllerian Hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Human Reproduction* 2005; 20: 1569-72.

33. Kevenaar ME, Themmen AP, Laven JS, Wanschoor NM, Lips P, Pols HA et al. Anti Müllerian hormone and Anti Müllerian Hormone Type-2 Receptor polymorphism are associated with follicular phase estradiol levels in normo ovulatory women. *Hum Reprod* 2007; 22: 1547-1554.

34. laPolit PS, Matt DW, Lu JK. Progesterone implants delay age related declines in regular estrous cyclicity and the ovarian follicular reserve in Long-Evans Rats. *Biol Reprod* 1998; 59: 197 – 201.

35. Freeman EW, Gracia CR, Sammel MD, Lin H, Lim LC, Starus JF. Association of anti-müllerian hormone levels with obesity in late reproductive age women. *Fertil and Steril* 2007; 87 (1): 101–106.

36. Hudson PL, Douglas I, Donahoe PK, Cate RL, Epstein J, Pepinsky RB et al. An Immunoassay to detect human mullerian inhibiting substance in males and females during normal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 76: 16 – 22.

37. Josso N, Legeai L, Forest MG, Chaussain JL, Brauner R. An enzyme linked immunoassay for anti-mullerian hormone: a new tool for the evaluation of testicular function in infants and children. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 13 – 27.

38. Gruijters MJG, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. Anti- müllerian hormone and it's role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol* 2003; 211 (1–2): 85–90.

39. Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist RB, Tremellen KP: Anti-müllerian hormone as a predictor of IVF outcome. *Reprod Biomed online* 2007; 14(5) : 602-610.

40. Bayramoğlu ZB: Anti-Müllerian Hormonun IVF sikluslarında over rezervini belirlemedeki rolü *Uzmanlık Tezi*, 2005–35.